

p73、PTEN 和 Ki-67 在子宫内膜样腺癌组织中的表达及意义

邓杰¹, 曹敦文², 刘铭球³, 朱润庆³, 陈洪雷³, 陈道英¹, 王冀鄂¹

Expression of p73, PTEN and Ki-67 Proteins in Endometrioid Adenocarcinoma and Their Significance

DENG Jie¹, CAO Dun-wen², LIU Ming-qiu³, ZHU Run-qing³, CHEN Hong-lei³, CHEN Dao-ying¹, WANG Ji-e¹

1. Department of Obstetrics and Gynecology, The First People Hospital of Hubei Xiangfan, Xiangfan 441000, China; 2. Central Hospital of China Railway 11th Group; 3. Department of Pathology, Wuhan University Medical College

Abstract: **Objective** To investigate significance and alterations in expression of p73, PTEN and Ki-67 proteins in endometrial carcinogenesis. **Methods** Immunohistochemistry was applied to detect expression of p73, PTEN and Ki-67 proteins in 13 normal proliferating endometria, 20 simple hyperplasia, 22 complex hyperplasia including 11 cases with atypical hyperplasia and 38 endometrioid adenocarcinomas. **Results** As malignant progression of lesions, the positive rates of p73 and ki-67 obviously increased, but that of PTEN decreased. There was highly relationship between p73 and Ki-67 expression ($P < 0.01$), Pearson coefficient was 0.5144. Expression of p73 and Ki-67 was associated with the grade, and that of PTEN and Ki-67 was associated with clinical stage and myometrial invasion. **Conclusion** p73, together with Ki-67, regulates endometrial epithelial cell growth, proliferation and promotes cancer. The change of PTEN is a early event in endometrioid adenocarcinoma. The levels of p73, Ki-67 and PTEN proteins are molecular markers for early diagnosis of endometrioid adenocarcinoma and can give direction to early clinical therapy.

Key words: Endometrioid adenocarcinoma; p73; PTEN; Ki-67; Immunohistochemistry

摘要:目的 探讨 p73、PTEN 和 Ki-67 蛋白在子宫内膜癌前病变及内膜样腺癌中的表达及意义。方法 用免疫组化 SP 法,在 13 例子宫内膜正常增生期、20 例简单型增生过长、22 例复杂型增生过长(包括 11 例不典型增生)及 38 例内膜样腺癌组织中检测 p73、PTEN 和 Ki-67 蛋白的表达情况。结果 随着子宫内膜病变的恶性进展,p73 和 Ki-67 蛋白的阳性表达率上调而 PTEN 下调,且 p73 和 Ki-67 表达上调呈显著正相关($P < 0.01$),Pearson 列联系数为 0.5144。p73 和 Ki-67 蛋白表达与子宫内膜样腺癌组织分化程度有关($P < 0.01$),Ki-67 和 PTEN 蛋白表达与子宫内膜样腺癌的临床分期和肌层浸润有关($P < 0.05$)。结论 p73 和 Ki-67 协同调控子宫内膜上皮细胞的生长、增殖,并促进癌变;PTEN 表达下调是子宫内膜样腺癌的早发事件。联合检测 p73、Ki-67 和 PTEN 蛋白的表达可作为在子宫内膜癌早期诊断的参考指标并指导临床早期治疗。

关键词: 子宫内膜样腺癌; p73; PTEN; Ki-67; 免疫组织化学

中图分类号: R737.33 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8578(2006)11-0811-03

0 引言

人类肿瘤的形成与多因素有关,随着分子生物学技术和实验技术的普及,基因标志物和基因治疗已成为肿瘤研究的热点。p73 和 PTEN 均是新发现的基因,子宫内膜癌发生发展过程中 p73、PTEN 和

Ki-67 相关性研究国内外未见文献报导。本研究中采用免疫组化 SP 法探讨 p73、PTEN 和 Ki-67 表达与子宫内膜样腺癌发生、发展的关系及相关性,寻找早期和癌变过程中阶段性的标志物,为早期诊治子宫内膜样腺癌提供理论依据。

1 资料和方法

1.1 病例资料 收集湖北襄樊市第一人民医院病理科 1993~2001 年存档的石蜡包埋子宫内膜标本,其中内膜样腺癌 38 例(高分化 28 例,中低分化 10

收稿日期:2005-05-12;修回日期:2006-05-30

作者单位:1. 441000 湖北省襄樊市第一人民医院妇产科;2. 中铁十一局中心医院;3. 武汉大学医学院病理教研室

作者简介:邓杰(1968-),女,硕士,副主任医师,主要从事妇科肿瘤的基础和临床研究

例),正常增生期 13 例,简单型增生过长 20 例,复杂型增生过长 22 例(包括 11 例不典型增生过长)。所有病例均经有经验的临床和病理专家确诊。选择的研究对象在诊刮或手术之前均无激素替代治疗及放化疗病史。

1.2 试剂 p73 兔抗人多克隆抗体(SC-7957)浓缩液(工作浓度 1:100),通用型 S-P 试剂盒均购自北京中山生物技术有限公司。Ki-67 鼠抗人单克隆抗体(MAB-0129),PTEN 鼠抗人单克隆抗体(MAB-0369),鼠 S-P 试剂盒购自福州迈新生物技术公司。

1.3 方法 取存档蜡块制成 4μm 厚的切片,采用免疫组化 SP 法染色。石蜡切片经脱蜡和水化后,用高压修复 p73 和 Ki-67 抗原:0.01M 枸橼酸钠缓冲液(pH 6.0)烧开后,放入切片上阀继续加热,待上气维持 90 秒后取下自然冷却;用微波修复 PTEN 抗原,之后的操作步骤严格按试剂盒说明书进行,用 PBS 代替一抗作阴性对照。

1.4 结果判断 以细胞核或胞浆中出现棕黄色颗粒为阳性。高倍镜下每张切片选 5 个视野,每个视野记数 100 个细胞,其中阳性细胞数 ≥ 25% 为阳性表达, < 25% 为阴性表达^[1]。

1.5 统计学处理 采用 χ^2 检验和四格表确切概率法及计数资料的相关分析法。

2 结果

2.1 p73、PTEN 和 Ki-67 蛋白表达情况

p73 蛋白定位于细胞核和细胞浆内(见图 1、3); Ki-67 蛋白表达定位于细胞核内(见图 2、4); PTEN 定位于细胞浆内(见图 5、6)。经统计学处理,正常增生期、简单型增生过长、复杂型增生过长子宫内膜 p73 和 Ki-67 蛋白阳性表达率明显低于子宫内膜样腺癌组织,差异有极显著性 ($P < 0.01$); 而 PTEN 蛋白阳性表达率明显高于子宫内膜样腺癌组织,差异亦具有显著性 ($P < 0.05$),见表 1。

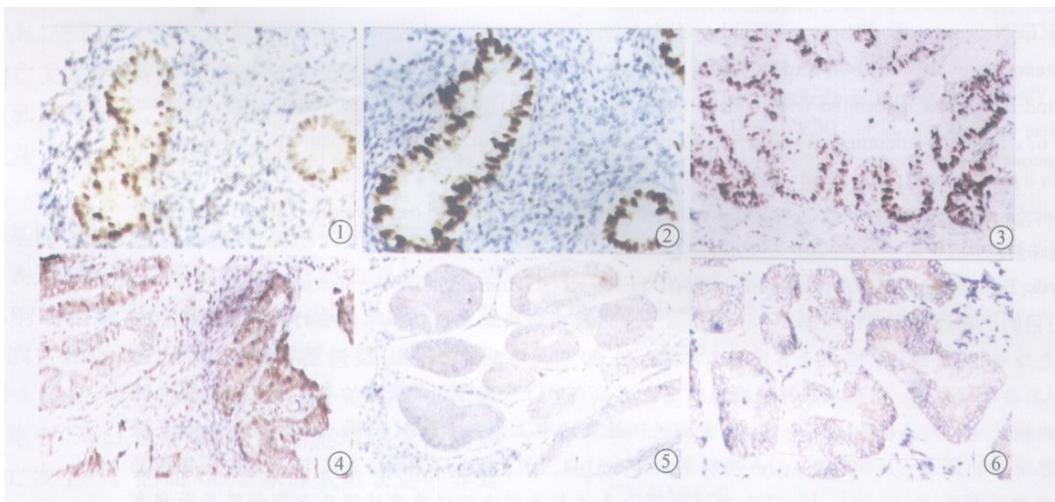


图 1 简单型增生过长中 p73 胞核和胞浆表达,SP ×400 图 2 简单型增生过长中 Ki-67 胞核表达,SP ×400 图 3 高分化癌中 Ki-67 胞核表达,SP ×200 图 4 高分化癌中 p73 胞核和胞浆表达,SP ×400 图 5 复杂型增生过长中 PTEN 胞浆表达,SP ×400 图 6 高分化癌中 PTEN 胞浆表达,SP ×200

表 1 p73、PTEN 和 Ki-67 蛋白在不同子宫内膜中阳性表达情况

Type	Case	p73 n(%)	PTEN n(%)	Ki-67 n(%)
Normal proliferating endometria	13	2(15.38) [#]	11(84.62) [#]	3(23.08) [#]
Simple hyperplasia	20	5(20.00) [#]	11(55.00)	6(30.00) [#]
Complex hyperplasia	22	9(40.91) [#]	14(63.64) [*]	10(45.45) [*]
Endometrioid adenocarcinomas	38	29(76.32)	13(34.21)	27(71.05)

[#] $P < 0.01$; ^{*} $P < 0.05$

2.2 各蛋白表达与子宫内膜样腺癌临床分期、分化程度及肌层浸润的关系

p73 蛋白阳性表达率与临床分期及肌层浸润无明显关系 ($P > 0.05$),而与分化程度有关 ($P =$

0.0402); PTEN 蛋白阳性表达率在临床分期中 I 期与 II+IV 期相比差异有显著性 ($P = 0.0319$),与肌层浸润有关 ($P = 0.0129$),而与分化程度无明显的相关性 ($P = 0.2702$); Ki-67 蛋白阳性表达率在临床分期中 I 期与 II+IV 期相比差异有显著性 ($P = 0.0112$),与分化程度有关 ($P = 0.0189$),且与肌层浸润也有显著关系 ($P = 0.0132$),见表 2。

2.3 p73 蛋白与 PTEN、Ki-67 蛋白表达的相关性

利用计数资料的相关性分析,在子宫内膜样腺癌中 p73 蛋白与 Ki-67 蛋白阳性表达高度正相关 ($P = 0.0002$),Pearson 列联系数为 0.5144; 而与 PTEN 无明显相关性 ($P = 0.1226$),见表 3。

表 2 p73、PTEN 和 Ki-67 与临床分期、肌层浸润及分化程度的关系

Type	Case	p73 n(%)	PTEN n(%)	Ki-67 n(%)
Clinical stage				
stage	20	15(60.00)	10(50.00)	11(55.00) *
stage	8	6(75.00)	2(25.00)	6(75.00) *
stage ~	10	8(80.00)	1(10.00)	10(100.00)
Grade				
high	28	19(67.86) *	11(39.29)	17(60.71) *
moderate-low	10	10(100.00)	2(20.00)	10(100.00)
Myometrial invasion				
1/2	25	18(72.00)	12(48.00)	15(60.00)
>1/2	13	11(84.62)	1(7.69) *	12(92.31) *

* P < 0.05

表 3 子宫内膜样腺癌中 p73 蛋白与 PTEN、Ki-67 蛋白的关系

Type	n	PTEN		Ki-67	
		+	-	+	-
p73	阳性 29	8	21	25	4
	阴性 9	5	4	2	7

3 讨论

p73 基因是 Kaghad 等^[21]于 1997 年发现的 p53 家族的第一个新成员,定位于 1p 36.33。p73 基因有 5 种经变位剪切的异构体、^[2,3]这 5 种异构体在人体组织中分布及功能不同,Pozinak^[4]发现 p73、可对抗 p53 的功能,p73、能协同 p53 诱导细胞凋亡。本研究发现 p73 蛋白表达在子宫内膜增生期中呈低表达 15.38%(2/13),随增生程度逐渐上调,癌组织中阳性率 76.32%(29/38)显著高于正常增生及复杂型增生过长组织(P < 0.01),而复杂型增生过长又显著高于正常增生组织(P < 0.05),这表明 p73 基因的表达上调是子宫内膜样腺癌发生过程中的一个重要事件,参与了子宫内膜样腺癌的发生机制。这结果与 Mai 等^[5]和 Tokuchi 等^[6]报导的 p73 在肺癌中的表达(87%)明显高于肺组织结果相似。本研究提示 p73 蛋白表达与组织学分化有关(P < 0.05),说明 p73 在子宫内膜样腺癌的癌变过程中起作用。p73 在子宫内膜样腺癌发生中的作用可能并非作为一个抑癌基因,或者可能在子宫内膜样腺癌组织中是 p73、异构体占优势而对抗经典抑癌基因 p53 的功能。对 p73 基因的定位、突变及转录剪切机制值得进一步研究。

PTEN 定位于 10q23,是第一个被发现的具有磷酸酶活性的抑癌基因。本研究结果显示正常增生期及复杂型增生过长子宫内膜中 PTEN 的阳性表达率显著高于内膜样腺癌组织,且 PTEN 与临床分

期、肌层浸润均有密切关系(P < 0.05),随分化程度的降低,阳性表达率有降低趋势,但差异无显著性(P > 0.05)。Mutter 等^[7]研究发现,子宫内膜样腺癌中 PTEN 突变率为 83%,癌前病变中达 55%,而正常子宫内膜中没有 PTEN 突变。揭示 PTEN 下调可作为子宫内膜样腺癌早期及预测预后的生物学标记,PTEN 可作为子宫内膜样腺癌基因治疗的候选基因。

Ki-67 是除了细胞 G₀期,在细胞 G₁、S、M、G₂期均会出现的核抗原,表达的高低,反映了细胞增殖的程度。本研究在子宫内膜样腺癌中 Ki-67 阳性表达率为 71.05%(27/38),与正常增生期及增生过长子宫内膜相比差异具有显著性(P < 0.05),且 Ki-67 表达增高与组织分化程度、临床分期及肌层浸润有关(P < 0.05),提示增殖活性的改变与癌变的进展过程有关。

在子宫内膜样腺癌中 p73 与 PTEN 无明显相关性,而和 Ki-67 表达上调呈显著正相关(P < 0.01),Pearson 列联系数为 0.5144,提示 p73 和 Ki-67 协同调控子宫内膜腺上皮细胞的生长、增殖,并促进癌变。

总之,肿瘤的发生是多基因作用的结果,各相关基因在肿瘤的发生发展中相互作用。联合检测 p73、PTEN 和 Ki-67 三种蛋白的表达可作为子宫内膜样腺癌早期诊断的参考指标并指导临床早期治疗。当然,如能对大宗病例进行多指标多水平的联合检测,将会大大提高临床预后的预测效果,更好地指导临床治疗。

参考文献:

- [1] 李中华,陈德基,江曼,等. 实验性肺癌癌变过程中 p53、mdm2、K-ras 及 PCNA 蛋白的表达[J]. 癌症,2001,20(9):922.
- [2] Kaghad M, Bonnet H, Yang A, et al. Monoallelically expressed gene related to p53 at 1p36, a region frequently deleted in neuroblastoma and other human cancers[J]. Cell, 1997,90(4):809-819.
- [3] De Laurenzi V, Costanzo A, Burcaroli D, et al. Two new p73 splice variants, gamma and delta, with different transcriptional activity[J]. Exp Med, 1998,188(9):1763-1768.
- [4] Pozniak CD, Radinovic S, Yang A, et al. An anti-apoptosis role for the p53 family member, p73, during development neuron death[J]. Science, 2000,289:304-306.
- [5] Mai M, Yokomizo A, Qian C, et al. Activation of p73 silence allele in lung cancer[J]. Cancer Res, 1999,58(1):2347-2349.
- [6] Tokuchi Y, Hashimoto T, Kobayashi Y, et al. The expression of p73 is increased in lung cancer, independent of p53 gene alteration[J]. Br Cancer, 1993, 80(10):1623-1629.
- [7] Mutter GL, Lin MC, Fitzgerald JT, et al. Altered PTEN expression as a diagnostic marker for the earliest endometrial precancers[J]. J Natl Cancer Inst, 2000, 92(11):861-863.

[编辑:安 凤]